



TITLE:

腎移植患者における尿蛋白,尿FDP (fibrinogen degradation products)および尿NAG (N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase)の検討

AUTHOR(S):

国方, 聖司; 池上, 雅久; 今西, 正昭; 西岡, 伯; 石井, 徳味; 植村, 匡志; 神田, 英憲; 松浦, 健; 秋山, 隆弘; 栗田, 学

CITATION:

国方, 聖司 ...[et al]. 腎移植患者における尿蛋白,尿FDP (fibrinogen degradation products)および尿NAG (N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase)の検討. 泌尿器科紀要 1989, 35(8): 1299-1304

ISSUE DATE:

1989-08

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/116647>

RIGHT:

# 腎移植患者における尿蛋白, 尿 FDP (fibrinogen degradation products) および尿 NAG (N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase) の検討

近畿大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 栗田 孝教授)

国方 聖司, 池上 雅久, 今西 正昭, 西岡 伯  
石井 徳味, 植村 匡志, 神田 英憲, 松浦 健  
秋山 隆弘, 栗田 孝

## STUDIES OF URINARY PROTEINS, FDP (FIBRINOGEN DEGRADATION PRODUCTS), AND NAG (N-ACETYL- $\beta$ -D-GLUCOSAMINIDASE) IN RENAL TRANSPLANTED PATIENTS

Seiji KUNIKATA, Masahisa IKEGAMI, Masaaki IMANISHI,  
Tsukasa NISHIOKA, Tokumi ISHII, Tadashi UEMURA,  
Hidenori KANDA, Takeshi MATSUURA, Takahiro AKIYAMA  
and Takashi KURITA

*From the Department of Urology, Kinki University School of Medicine*

The urinary proteins, FDP (fibrinogen degradation products), and NAG (N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase) in renal transplanted patients were studied. SDS (sodium dodecyl sulphate) electrophoresis was used for the differentiation of urinary proteins according to their molecular size. In the azathioprine-treated patients with stable renal function, most of the urinary proteins were albumin. However, the low molecular weight (LMW) proteins, which were suggestive of tubular proteins, appeared in the urine of the ciclosporin-treated patients with stable renal function. During the rejection episodes of the ciclosporin-treated patients, the fraction of LMW proteins increased. The elevation of urinary FDP and NAG index (urinary NAG/urinary Cr) were detected in association with rejection episodes. Urinary NAG index increased in proportion to the elevation of serum Cr. However, the elevation of urinary NAG index was found in some ciclosporin-treated patients with normal serum Cr. The elevation of NAG index without the elevation of urinary FDP occurred in ciclosporin nephrotoxicity. The SDS electrophoresis of urinary proteins, urinary FDP, and urinary NAG index can be useful parameters for monitoring ciclosporin nephrotoxicity.

(Acta Urol. Jpn. 35: 1200-1304, 1989)

**Key words:** Proteinuria, NAG, FDP, Kidney, Transplantation

### 緒 言

各種腎疾患にて, 尿蛋白, 尿 FDP (fibrinogen degradation products) および尿 NAG (N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase) が出現することは, 報告されている<sup>1-3)</sup>. 当然, 腎移植直後はこの腎阻血による腎障害のためにこれらが出現するが, 時間の経過および腎機能の正常化とともに消失する. しかし移植腎の糸球体腎炎の再発あるいは拒絶反応などの腎障害がおこっ

た場合, 尿蛋白, 尿 FDP および NAG の出現が考えられる. また現在, シクロスポリンの使用により腎移植の成績が一段と向上しているが<sup>4)</sup>, 本剤がもたらす腎障害が問題となっている.

われわれは, 腎移植患者の尿蛋白, 尿 FDP および尿 NAG を測定し, シクロスポリンの腎毒性, 拒絶反応の腎障害について検討した.

### 対象および方法

近畿大学医学部付属病院泌尿器科にて1987年12月までに腎移植を行ったものは、生体腎移植37例、死体腎移植30例の合計67例である。このうち移植直後の腎障害の影響をさけるために、術後3カ月以上を経過した症例を対象とした。azathiopurine, mizoribin, prednisolone を投与したものを ciclosporin (Cs A) 未使用群とし、Cs A, prednisolone を投与したものを Cs A 使用群として、比較検討した。当科では、1978年9月から全例に Cs A を使用しているため、Cs A 未使用群が Cs A 使用群に比較して腎移植経過年数が大幅に長い。

検討項目としては、(1) 随時尿の蛋白濃度、 $\alpha_1$ -microglobulin (MG) 濃度、 $\beta_2$ -microglobulin (MG) 濃度および尿蛋白分析の測定を行った。尿蛋白分析は、第一化学薬品株式会社製 SDS (sodium dodecyl sulphate) polyacrylamide gel plate (gel 濃度勾配：4~20%) を用いて SDS 電気泳動を行い、Coomassie brilliant blue にて染色後、LKB 社製 2202 Ultra Scan Laser Densitometer (吸光波長 633 nm) を用いて測定した。(2) 随時尿の FDP 濃度と NAG 活性濃度を検討した。尿 FDP は、ラテックス凝着反応にて測定した。また尿 NAG は、塩野義 NAG 測定キットにて測定し、NAG index (随時尿 NAG 活性濃度/随時尿 Cr 濃度, U/g Cr) として検討した。

### 結 果

#### (1) 随時尿の蛋白濃度、 $\alpha_1$ -MG 濃度、 $\beta_2$ -MG 濃度

#### および蛋白分析

Cs A 未使用群と Cs A 使用群にて、随時尿蛋白、 $\alpha_1$ -MG、 $\beta_2$ -MG 濃度を検討したが、両群に有意の差はみられなかった。2例に多量の尿蛋白排泄例がみられ、移植腎生検術を行った。1例は逆流腎症のため生体腎移植を、もう1例は慢性糸球体腎炎のために生体腎移植を行ったものであるが、組織学的にはこれらの再発は否定され、慢性拒絶反応による蛋白尿であった (Fig. 1)。尿蛋白分析では、albumin 以下の低分子量蛋白を low molecular weight (LMW) proteins, albumin 以上の高分子量蛋白を high molecular weight (HMW) proteins として検討した。Fig. 2 は、Cs A 使用群の拒絶反応の徴候がなく、腎機能が安定した症例の尿蛋白分析である。蛋白の大部分が albumin である。症例を、Cs A 未使用で拒絶反応の徴候のないもの、Cs A 使用でやはり拒絶反応の徴候のないもの、および Cs A 使用で組織学的にも拒絶反応と診断されたものの3群に分けて検討すると、3タイプに分類された (Fig. 3)。これらを尿蛋白中の比率として定量的に LMW proteins, albumin, HMW proteins を分析すると、Cs A 未使用かつ拒絶反応のないものは、尿蛋白の大部分が albumin であった。しかし Cs A 使用かつ拒絶反応がみられないものは、Cs A 未使用のものに比較して LMW proteins の比率が増加していた。さらに Cs A 使用かつ拒絶反応のものは、LMW proteins が albumin に匹敵するほど増加していた (Fig. 4)。

#### (2) 随時尿の NAG index と FDP 濃度

臨床的に拒絶反応と診断し、ステロイドの大量投与

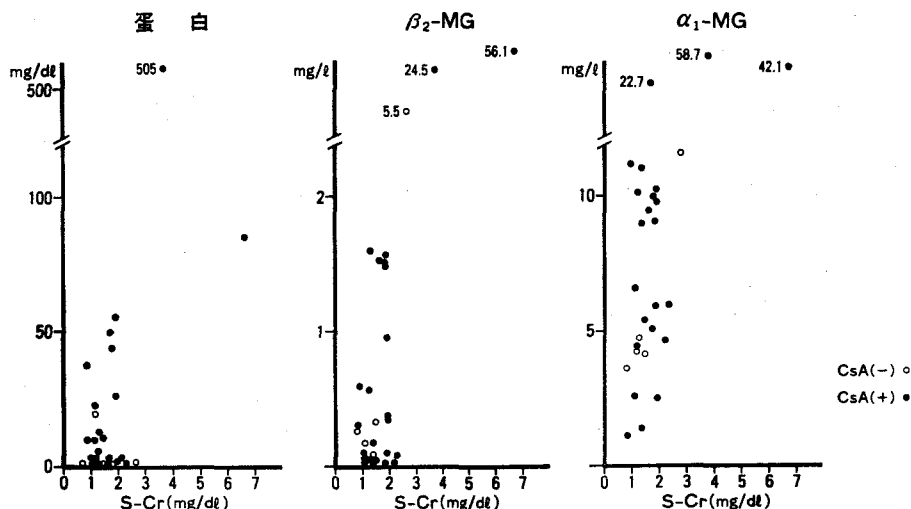


Fig. 1. Spot urine protein in patients after renal transplant

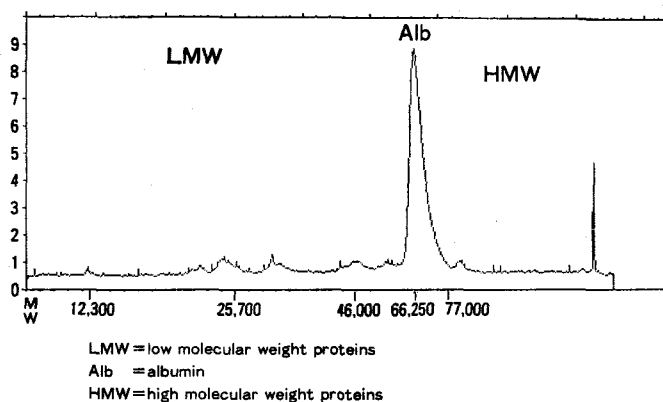


Fig. 2. Urinary protein analysis measured with SDS electrophoresis

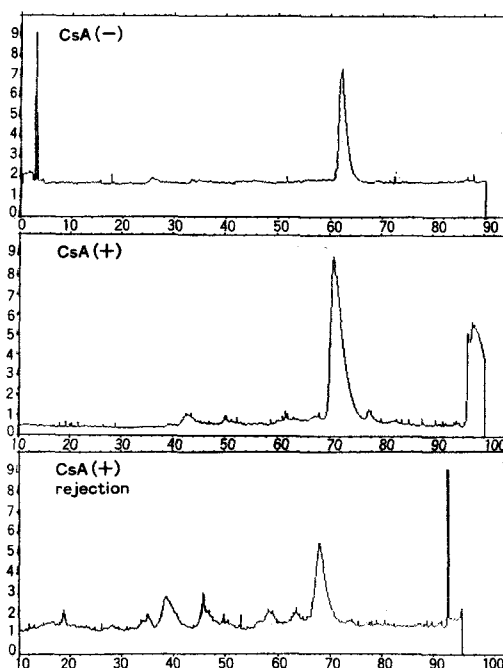


Fig. 3. Urinary protein patterns analyzed with SDS electrophoresis in azathiopurine-treated patients without rejection, Cs A-treated patients without rejection, and Cs A-treated patients during rejection.

により改善したものの拒絶反応中の症例にて、随時尿の NAG index と FDP 濃度を検討した。尿 FDP は拒絶反応中、Cs A 使用群に 1 例正常のものがあるが、そのほかものはすべて異常高値を示していた。また随時尿 NAG index も拒絶反応中、ほとんどが上昇傾向にあるが、これは腎機能低下と相関して上昇していた (Fig. 5)。一方、臨床的に拒絶反応の徴候もなく尿 FDP も正常範囲内の症例にて、随時尿 NAG

	LMW	Alb	HMW
CsA(-)	8%	86%	5%
(n=4)	(4-13)	(82-94)	(1-12)
CsA(+)	24%	68%	8%
(n=14)	(7-37)	(34-90)	(1-32)
CsA(+)	46%	45%	4%
rejection	(42-48)	(43-47)	(2-9)
(n=3)			

LMW low molecular weight proteins  
Alb albumin  
HMW high molecular weight proteins

Fig. 4. Urinary protein fractions of azathiopurine-treated patients without rejection, Cs A-treated patients without rejection, and Cs A-treated during rejection.

index を検討した。Cs A 未使用群では、NAG index は血清 Cr の上昇とともに高値を示す傾向にあるが、Cs A 使用群では、血清 Cr が正常範囲にあるにもかかわらず比較的多くのもので NAG index の上昇がみられた (Fig. 6)。1 症例の随時尿 FDP, NAG index の経過を示す (Fig. 7)。

症例は、23歳男性である。1984年12月5日に母親を donor として生体腎移植が行われ、術後順調に経過し1985年1月15日退院した。以降外来通院していたが、尿 NAG index は、腎機能が良好であるにもかかわらず異常高値を示していた。同年2月中旬、尿 FDP の上昇とともに血清 Cr の上昇傾向を認め拒絶反応と診断し、methyl predonisolone のパルス治療を行い血清 Cr は下降した。しかしこの後、しだいに血清 Cr, 尿 NAG index の上昇がみられ、Cs A の腎毒性によるものと診断し、Cs A を減量した。これにより、血清 Cr は下降し、尿 NAG index も正常化した。

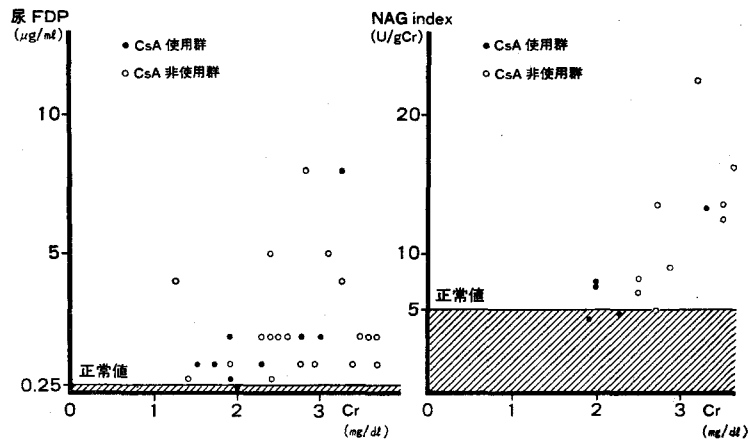


Fig. 5. Spot urinary FDP and NAG index during rejection in renal transplanted patients

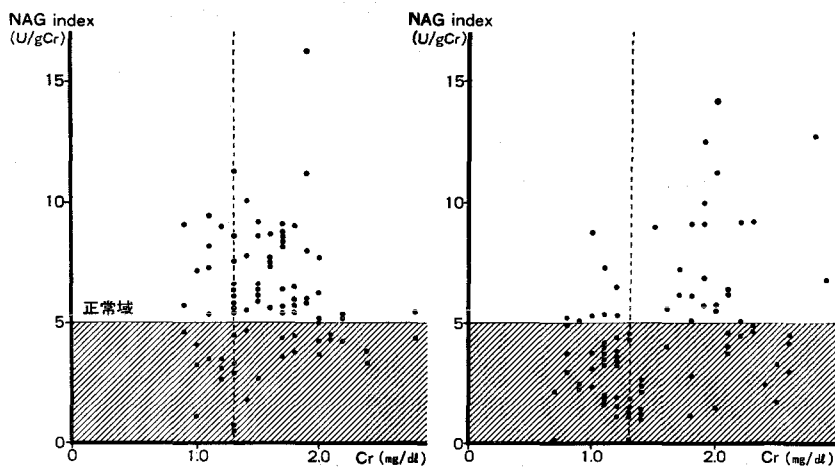


Fig. 6. Spot urinary NAG index in Cs A- and azathiopurine-treated patients with stable renal allografts and normal urinary FDP (right: azathiopurine-treated patients, left: Cs A-treated patients).

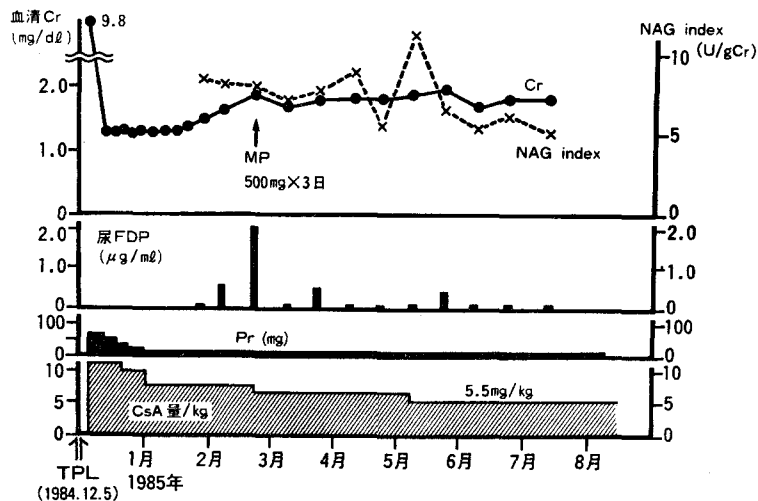


Fig. 7. Clinical course

# 考察

腎移植患者には、しばしば高度蛋白尿を呈する症例がみられる。このとき最も問題となるのは、この蛋白尿が移植腎への再発腎炎、*de novo* 腎炎によるものか、あるいは拒絶反応とくに慢性拒絶反応によるものの鑑別である。First ら<sup>5)</sup>は、腎移植患者の 11% に高度蛋白尿を認め、この主な原因が *transplant glomerulopathy*, *glomerulonephritis*, *chronic rejection* であったと報告している。また Lemann ら<sup>6)</sup>は、尿蛋白と尿 Cr の比によって腎移植の糸球体病変が推定できると報告している。われわれの検討でも、2 例に高度蛋白尿を呈する症例を経験し、移植腎生検術を行った。組織学的には、高度の糸球体変性のみられる慢性拒絶反応と診断された。

一方、蛋白尿から腎移植患者の拒絶反応の予知あるいはモニタリングをしようという試みが、以前から報告されている。Rarnskov<sup>7)</sup>は、尿中の  $\alpha_2$ -microglobulin,  $\beta_2$ -microglobulin, albumin を測定し、これらの蛋白と Cr のクリアランス比から拒絶反応のモニタリングを試みている。山本ら<sup>8)</sup>も、各種尿蛋白クリアランスから移植腎の評価として、尿細管性および糸球体性蛋白の混合排泄を示すものは、慢性拒絶反応が示唆されると報告している。しかし Burghard ら<sup>9)</sup>は、小児腎移植患者の尿蛋白分析を行い、急性拒絶反応では LMW proteins の上昇がみられるが、臨床症状が出現する以前に拒絶反応を予知することはできなかったと報告している。われわれの検討でも、拒絶反応中に LMW proteins の尿排泄をみたが、拒絶の免疫反応が開始する時点、すなわち臨床症状が出現する以前では、腎障害にいたっておらず、尿蛋白分析から拒絶反応を予知するのは困難と思われる。

最近では、シクロスポリンの腎毒性が問題となっており、Lapin ら<sup>10)</sup>は、このモニタリングに SDS 電気泳動法による尿蛋白分析を用いている。この報告の中で、Cs A による腎毒性では、*tubular proteins* 排泄タイプ、微量の *glomerular proteins* と *tubular proteins* が混在して排泄される 2 タイプがあると述べている。われわれも同様に、SDS 電気泳動を行いさらに densitometer にて定量的評価を加えた。Cs A を使用している患者では、Cs A を使用していないものより、LMW proteins すなわち尿細管性蛋白が増加する傾向がみられた。これは、Cs A の腎毒性が主に尿細管におこるためであろう<sup>11)</sup>。しかし拒絶反応にも、LMW proteins が増加する傾向がみられ、Cs A の腎毒性に特有な尿蛋白排泄パターンは見い出せ

ず、尿蛋白分析からだけでは Cs A の腎毒性と拒絶反応の鑑別はできなかった。

現在、尿中への遊離酵素の測定から、拒絶反応、薬物の腎毒性を検出しようという試みがなされている。Jung ら<sup>12)</sup>は、尿中の *alanine aminopeptidase*, *alkaline phosphatase*,  $\gamma$ -*glutamyltransferase*, *N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase (NAG)*, *lysozyme* を測定し、*alanine aminopeptidase* が最も拒絶反応を反映したと報告している。また Kotanko ら<sup>13)</sup>は、尿中の *fructose-1, 6-bisphosphatase*, *glutathione S-transferase*, *NAG*, *pyruvate kinase* を測定し、これらの酵素活性の総合分析が拒絶反応の検出には重要であると報告している。一方、Corbett ら<sup>14)</sup>は、腎移植患者の尿 NAG を測定するとともに、これと異なった成因からなる尿 FDP を測定し、両者とも拒絶反応を反映するが、尿 NAG は検出率が高く尿 FDP は偽陽性率が低かったと報告している。

NAG は、近位尿細管に主に存在する *lysosomal enzyme* であり尿細管障害に伴ない尿中に出現する<sup>15)</sup>。この特性から、尿中 NAG は薬物の腎毒性のモニタリングに使用され、Bourbouze ら<sup>16)</sup>は、腎移植患者での *gentamicin* による腎障害の評価に有効であったと報告している。また Duncan ら<sup>17)</sup>は、ラット腎移植の実験モデルにて Cs A による腎障害の指標として尿 NAG を使用している。一方、Asfar ら<sup>18)</sup>は、ラット腎移植にて血清 Cr, 尿 NAG, 拒絶反応時の組織学的所見が相関すると報告している。われわれの検討でも、尿 NAG index は、Cs A 未使用群では血清 Cr と相関して上昇していた。

尿 FDP は、糸球体に沈着した *fibrin*, 血中の *fibrinogen*, FDP に由来するといわれ<sup>19)</sup>、拒絶反応に付随して出現する<sup>20)</sup>。われわれの検討でも、拒絶反応中にはほとんどの症例に尿 FDP の上昇を認めた。一方、拒絶反応の徴候もなく腎機能が良好に保たれている症例では、尿 FDP が正常であるにもかかわらず尿 NAG index が高値を示す症例が Cs A 使用群に多数みられた。これは、Cs A による腎毒性を反映したものと考えられる。すなわち拒絶反応の場合、尿 NAG index と尿 FDP は同時に上昇するが、Cs A の腎毒性の場合は、尿 NAG index は高値を示すが尿 FDP は正常を示す。とくに尿 NAG index は、Cs A の腎毒性により血清 Cr が上昇する以前に、高値を示す。呈示した症例では、拒絶反応がなく尿 NAG index, 血清 Cr が上昇傾向にあったものが、Cs A の減量により腎機能の改善と尿 NAG index の低下を見ている。今回の検討では、Cs A の腎毒性に対し

て組織学的な検討が行われていないが、尿 FDP と尿 NAG の同時測定は、Cs A の腎障害のモニタリングに有効であると考えられた。

## 結 語

1. 尿の SDS 電気泳動による分析を行い、Cs A 使用の腎移植患者に LMW proteins すなわち尿細管性蛋白の排泄を認めた。しかし拒絶反応中にも LMW proteins の増量がみられ、Cs A の腎毒性との鑑別はできなかった。

2. 尿 FDP と尿 NAG index は、拒絶反応中は上昇傾向を示した。一方、拒絶反応の徴候がなく腎機能も良好な Cs A 併用の患者で、尿 FDP が正常であるにもかかわらず尿 NAG index が高値を示す症例が多数みられた。これは Cs A の腎毒性が示唆された。

## 文 献

- 山本 隆：小児の各種腎疾患における尿中蛋白成分に関する研究。日腎誌 28：707-720, 1986
- Scott WL, Francis CW, Knutson DW and Marder VJ: Specific identification of urinary fibrinogen, fibrinogen degradation products, and cross-linked fibrin degradation products in renal disease and after renal allotransplantation. J Lab Clin Med 107: 534-543, 1986
- 石田美久, 河田哲也, 杉野信博：腎疾患, 腎移植患者における尿中 NAG 活性の臨床的意義。臨床病理 56: 160-167, 1983
- 日本移植学会：1987年腎移植臨床登録集計報告。移植 23: 315-333, 1988
- First MR, Vaidya PN, Maryniak RK, Weiss MA, Munda R, Fidler JP, Penn I and Alexander JW: Proteinuria following transplantation, correlation with histopathology and outcome. Transplantation 38: 607-612, 1984
- Lemann J Jr and Doumas BT: Proteinuria in health and disease assessed by measuring the urinary protein/creatinine ratio. Clin Chem 33: 297-299, 1987
- Ravnskov U: Proteinuria after human renal transplantation. I. Urinary excretion of  $\alpha_2$ -microglobulin (retinol-binding protein),  $\beta_2$ -microglobulin, lysozyme and albumin. Scand J Urol Nephrol 8: 37-44, 1974
- 山本 隆, 宮田 曠, 牧 淳, 国方聖司, 神田英憲, 松浦 健, 秋山隆弘, 栗田 孝：尿蛋白クリアランスからみた移植腎の病理解析。日腎誌 30: 385-390, 1988
- Burghard R, Galaskee RG, Offner G, Ehrlich HH, Leitis JU and Brodehl J: Urinary protein analysis in the early detection of acute rejection episode after renal transplantation in children. Clin Nephrol 26: 1-6, 1986
- Lapin A, Zyman H and Gabl F: Monitoring of urinary proteins by SDS electrophoresis in kidney transplantation patients. J Clin Chem Clin Biochem 24: 221-225, 1986
- Mihatsch MJ, Ruffel B, Hermle M, Brunner FP and Thiel G: Morphology of cyclosporine nephrotoxicity in the rat. Clin Nephrol 25: 2-8, 1986
- Jung K, Diego J, Tirobelt V, Scholz D and Schreiber G: Diagnostic significance of some urinary enzyme for detecting acute rejection crises in renal transplant recipients: alanine aminopeptidase, alkaline phosphatase,  $\gamma$ -glutamyltransferase, N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase and lysozyme. Clin Chem 32: 1807-1811, 1986
- Kotanko P, Keiler R, Knabl L, Aulitzky W, Margreiter R, Gstraunthaler G and Pfaller W: Urinary enzyme analysis in renal allograft transplantation. Clin Chim Acta 160: 137-144, 1986
- Corbett R, Gardner GJ, Kind PRN, Thompson AE and Price RG: Comparison of urinary N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase and urinary fibrin degradation products for diagnosis of rejection after renal transplantation. Clin Chim Acta 128: 141-150, 1983
- Dance N, Price RG, Robinson D and Stirling J:  $\beta$ -Galactosidase,  $\beta$ -glucosidase and N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase in human kidney. Clin Chim Acta 24: 189-197, 1969
- Bourbouze R, Gluckman J, Frantz P, Paraire M, Baumann F, Luciani J, Percheron F and Legrain M: Early monitoring of human renal transplantations by N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase isoenzyme activities in urines. Clin Chim Acta 149: 185-195, 1985
- Duncan JI, Heys SD, Thomson AW, Simpson JG and Whiting PH: Influence of the hepatic drug-metabolizing enzyme-inducer phenobarbitone on cyclosporine nephrotoxicity and hepatotoxicity in renal allografted rats. Transplantation 45: 693-697, 1988
- Asfar SK, Whiting PH, Simpson JG, Gatto GRD and Engeset J: Early diagnosis of rejection. Transplantation 37: 548-551, 1984
- Hall CL, Blainey JD and Gaffney PJ: Origin of urinary fibrin-fibrinogen degradation products in renal glomerular disease. Nephron 23: 6-9, 1979
- 秋山隆弘, 金子茂男, 井口正典, 南 光二, 門脇照雄, 八竹 直, 栗田 孝, 石橋道男, 有馬正明, 宇佐美道之, 佐川史郎, 高羽 津：腎移植における線溶系の研究, 拒絶反応における血中・尿中 FDP の変動。日泌尿会誌 68: 599-608, 1977 (1988年10月31日受付)